

## ⑫ 公表特許公報 (A)

昭64-500247

⑬ 公表 昭和64年(1989)2月2日

⑭ Int. Cl.<sup>4</sup>

識別記号

庁内整理番号

審査請求 未請求

A 61 M 35/00  
37/006859-4C  
6859-4C

予備審査請求 未請求

部門(区分) 1 (2)

(全 7 頁)

⑯ 発明の名称 経皮的な薬剤供給の超音波による増強

⑰ 特 願 昭62-504399

⑱ 翻訳文提出日 昭63(1988)3月8日

⑲ 出 願 昭62(1987)6月29日

⑳ 国際出願 PCT/US87/01546

㉑ 国際公開番号 WO88/00001

㉒ 国際公開日 昭63(1988)1月14日

優先権主張 ㉓ 1986年7月8日 ㉔ 米国 (U S) ㉕ 883,111

㉖ 発 明 者 コスト, ジョセフ

イスラエル国 オマー, オーレン 13

㉗ 発 明 者 レヴィ, ドローラ

イスラエル国 ハーツリア, アーイ. ダカー 27

㉘ 発 明 者 ランジャー, エス. ロバート

アメリカ合衆国 マサチューセッツ 02143 ソマービル, グリーンビル ストリート 46

㉙ 出 願 人 マサチューセッツ インステイ  
チュート オブ テクノロジーアメリカ合衆国 マサチューセッツ 02139 ケンブリッジ, マサ  
チューセッツ アベニュー 77

㉚ 代 理 人 弁理士 山本 秀策

㉛ 指 定 国 A T (広域特許), B E (広域特許), C H (広域特許), D E (広域特許), F R (広域特許), G B (広域特許), I . T  
(広域特許), J P, L U (広域特許), N L (広域特許), S E (広域特許)

## 請求の範囲

1. 分子の経皮的導入を促進および制御する方法であって、

a) 導入すべき分子を選択すること;

b) 水の吸収係数に類似した吸収係数を有する媒体に該分子を含有させること; および

c) 該媒体中の該分子に、超音波を 20kHz と 10MHz との間の周波数で、0 W/cm<sup>2</sup> と 3 W/cm<sup>2</sup> との間の強度で、皮膚に損傷を与えずに制御された速度で該分子を経皮的に導入させるように選択された時間にわたって照射すること;  
を包含する方法。2. 請求の範囲第1項に記載の方法であって、前記超音波の周波数は、0.5MHz と 1.5MHz との間で、かつ 2 W/cm<sup>2</sup> と 4 W/cm<sup>2</sup> との間の強度で照射される。

3. 請求の範囲第1項に記載の方法であって、前記超音波は10分間より短く照射される。

4. 請求の範囲第1項に記載の方法であって、前記媒体は水性ゲルである。

5. 請求の範囲第1項に記載の方法であって、前記媒体は、支持体、粘着剤、薬剤含有マトリックス、および保護カバーを包含する経皮的薬剤吸収貼付剤である。

6. 請求の範囲第1項に記載の方法であって、前記超音波は連続的に照射される。

7. 請求の範囲第1項に記載の方法であって、前記超音波はパルス的に照射される。

8. 請求の範囲第1項に記載の方法であって、前記分子は、タンパク、薬剤、抗原、ビタミン、無機化合物、有機化合物、およびこれらの組み合わせでなる分子の群から選択され、該分子は循環器系に導入された場合に生物学的効果を有する。

9. 請求の範囲第1項に記載の方法であって、該方法は前記超音波が照射された前記皮膚の温度を測定することをさらに包含する。

10. 請求の範囲第1項に記載の方法であって、前記超音波は、ある周波数および強度で、皮膚の温度を2℃より高く上昇させないような時間にわたって照射される。

11. 請求の範囲第1項に記載の方法であって、該方法は体液中における前記分子の濃度を測定することをさらに包含する。

12. 請求の範囲第1項に記載の方法であって、該方法は、前記分子の濃度を時間に対して測定すること; および該分子の経皮的な移行速度を、特定の周波数、強度、および超音波照射時間について決定すること; をさらに包含する。

13. 請求の範囲第12項に記載の方法であって、該方法は、前記周波数、強度、および超音波照射時間を変更することによって前記分子の経皮的な移行速度を最適化することをさらに包含する。

14. 請求の範囲第1項に記載の方法であって、前記分子は色素、保存剤、および皮革および毛皮を処理するための他の分子でなる分子の群から選択される。

## 明 細 書

## 経皮的な薬剤供給の超音波による増強

## 発明の背景

本発明は一般に薬剤供給の分野におけるものであり、特に超音波によって増強および制御された経皮的薬剤供給の分野に関するものである。

薬剤は通常、経口的または注射のいずれかによって投与される。大部分の薬剤の有効性は、血流中で一定の濃度に達するかどうかにかかっている。いかなる投与形態によっても排除することのできない固有の副作用を有する薬剤もあるが、多くの薬剤は、特定の投与経路に特に関連した望ましくない挙動を示す。例えば、薬剤は、胃における低いpH、局在する酵素、あるいは胃の中での食物や飲み物との相互作用によって、胃腸管において分解され得る。薬剤または疾患それ自体が、嘔吐や下痢のために、薬剤の吸収を妨げたり、あるいは慢ったりすることがある。薬剤全体がそのままの状態で胃腸管を通過する場合には、肝臓における初期通過効果によって、薬理学的に不活性な形態へと迅速に代謝されることになる。時には、薬剤自体が望ましくない固有の性質（例えば、半減期が短い、効力が高い、または治療効果のある血中レベルの範囲が狭い）を有することもある。

最近、従来の投与形態における問題点のいくつかを解決し

速度を外部から制御する方法が存在しない。

Fahie の米国特許第4,309,989号には、油のような結合剤と共に超音波を使用して、薬剤を局所的に投与することが開示されている。少なくとも1000KHzの周波数で1~3W/cm<sup>2</sup>の強度の超音波を用いて、単純性疱疹ウイルスの治療のための亜鉛含有化合物が、選択的かつ局所的に細胞内濃縮された。この開示された方法の重要な限界は、薬剤を局所的に投与することと、薬剤を細胞内に局在させることにしか使用できないという点である。

第1図に示すように、皮膚は複雑な構造になっている。少なくとも4つの異なる組織層が存在する：増殖能力のない表皮（角質層）、増殖能力のある表皮、増殖能力のある真皮（真皮）、および皮下結合組織（皮下組織）。これらの層内に局在するのは、皮膚の循環器系、すなわち動脈神経叢、および付属器（毛髪、脂腺、および汗腺を含む）である。循環器系は真皮中および真皮の下組織中に存在する。拡散の機構によって表皮と血液との間における養分の交換が行われる。毛細血管は、実際には表皮構造には臨しておらず、皮膚の外側表面の150~200μmの範囲内に存在する。

第1図に示すように、皮膚の透過は以下の過程によって起こり得る：

- (a)角質層を通過しての細胞を經由した透過；
- (b)角質層を通過しての細胞間透過；および
- (c)付属器を經由した透過（特に、毛髪脂腺器官の脂腺経路

ようとする試みには、薬剤の経皮的供給が含まれる。局所的な投与は、主として局在した皮膚疾患の治療において、長年にわたって使用されている。しかしながら、局所的な治療においては、薬剤が皮膚の外層を透過して疾病状態を治療するが、該薬剤の全身における蓄積がほとんどないか、あるいは皆無であるということだけが要求される。経皮的供給系は、全身における血中レベルを得るために、特に設計される。経皮的透過または経皮的吸収は、薬剤などの物質が、皮膚の外側から皮膚の様々な層を経て血流中へと通過することであると定義できる。

皮膚を通過しての薬剤の輸送は、多くの因子がその透過に影響を与えるため複雑である。これらの因子には、皮膚の構造およびその特性：透過分子、および該分子と皮膚および供給マトリックスとの物理化学的關係；そして皮膚、透過剤、および供給系全体の組み合わせが含まれる。薬剤の局所的な投与は、特に皮膚の透過特性に留意したものである。多くの報告において、化学的増強剤、すなわち角質層に侵入して薬剤透過に対するその抵抗性を低下させる分子を用いたり、あるいはイオン導入のような外部手段によって、皮膚の透過性を変化させる試みが述べられている。ジメチルスルホキシド(DMSO)、あるいは1-ドデシルアザシクロヘプタン-2-オン（アゾン(Azone)）のような試薬は、それら中に組み込まれている薬剤の透過を促進させる傾向がある。しかしながら、イオン導入を除けば、これらの系には、いずれも薬剤放出の

および塩汗腺の水性経路を含む）。前者2つの機構においては、表皮および真皮の残りの部分をさらに拡散していく必要がある。第3の機構では、拡散によって表皮へ漏出したり、真皮へ直接透過したりする。

薬剤の経皮的供給では、他の全身性薬剤投与法に比べて非常に優れた特徴がある。しかし、これらの利点にもかかわらず、経皮的に供給し得る薬剤は比較的わずかである。大部分の薬剤は、治療効果を得るほど十分な速さでは皮膚を透過しない。

インビトロにおける薬剤の定常状態皮膚透過率は、ジギトキシニンに対する0.00013μg/cm<sup>2</sup>・hr程度の低いものからエフアドリンに対する300μg/cm<sup>2</sup>・hrまでに及んでいる。経皮的透過性を決定するには、皮膚の性質に関するいくつかの因子を考慮しなければならない。例えば、物質が通過する皮膚のタイプは動物種により異なる。また、年齢によっても変化する。乳児の皮膚は成人の皮膚に比べて、非常に透過性が高い。皮膚の局所的な構成、厚さ、および密度によっても異なり、損傷、あるいは有機溶剤または界面活性剤への暴露の回数として、さらには乾燥や表皮剥脱などのある種の疾患の回数としても変化する。臨床的に有用な薬剤の経皮的投与を行なうためには、透過率を増強および制御する何らかの方法を見い出さなければならない。

従って、本発明の目的は、分子が皮膚を通して循環器系へ透過するのを促進および制御する方法を提供することにある。

本発明の他の目的は、外部から皮膚への透過であって、皮膚または導入される薬剤のいずれをも損なわないような透過を促進する方法を提供することにある。

本発明のさらに他の目的は、薬剤の治療上適切な血中レベルを得ることが第1目標である場合に、薬剤の経皮的な供給を行う改良された方法を提供することにある。

本発明の別の目的は、水溶液、無機溶液、または脂質溶液に可溶性分子を含む種々の分子に有用な、薬剤の経皮的な供給を行う改良された方法を提供することにある。

本発明の別の目的は、生体の皮膚および非生体の皮膚の両者に有用であり、用途の多い方法を提供することにある。

本発明のさらに別の目的は、薬剤の皮膚透過を促進するための方法であって、簡便であり、効果的であり、再現性があり、そして経済的である方法を提供することにある。

(以下余白)

他の分子が非生体の皮膚を透過するのを促進させる。例えば、保存剤または色素が獣皮またはきめ細かな毛皮に拡散する速度を増大させる。

インビボおよびインビトロの両方における経皮的移行の促進は、放射線照射された $^3\text{H}$ -D-マンニトールおよび $^3\text{H}$ -イヌリンがラットおよびマウスの皮膚を透過することに関する実施例によって示される。5~20 $\mu\text{Ci}$ の $^3\text{H}$ -D-マンニトール試験溶液を、無毛マウスの背中の皮膚およびラットの背中上部の毛をそった部位に塗布し、次いで超音波用ゲルを載置した。

20 $\mu\text{Ci}$ の $^3\text{H}$ -D-マンニトールを局所的に塗布し、次いで直ちに1.5~2.0W/cm<sup>2</sup>の超音波を2~3分間照射した後の放射能の排出を調べたところ、超音波処理したラットが最初の2分間で尿中に排出した放射能は対照の場合の20倍であった。

#### 図面の簡単な説明

第1図はヒトの皮膚の断面図である。

第2図はラットおよびマウスの皮膚を介した $^3\text{H}$ -D-マンニトールの拡散を表すグラフである。○-○-○および●-●-●は、ラットの場合であり、それぞれ超音波照射を行った結果と行わなかった結果である。○-○-○および●-●-●は、マウスの場合であり、それぞれ超音波照射を行った結果と行わなかった結果である。

第3図は、20 $\mu\text{Ci}$ の $^3\text{H}$ -D-マンニトールを局所的

#### 発明の要旨

本発明は超音波を用いて分子の経皮的透過を促進および制御する方法である。このような分子には、薬剤、抗原、ビタミン、無機化合物、有機化合物、およびこれら物質の様々な組み合わせが含まれる。この分子は皮膚を通過して循環器系へ至る。照射される超音波エネルギーの周波数および強度、超音波発生器と皮膚との間にある媒体、および照射時間の長さは、皮膚のタイプおよび経皮的に拡散されるべき物質に従って決定される。ある時間にわたって測定された血液および尿中における拡散分子のレベルは、どのような条件下で適当な移行が起こるかを決定するためにまず用いられる。

一般に、超音波の周波数範囲は20kHzと10MHzとの間であり、強度は0W/cm<sup>2</sup>と3W/cm<sup>2</sup>との間である。皮膚の損傷を防ぐために周波数を低下させると強度が減少する。好ましい周波数の範囲は0.5MHzと1.5MHzとの間であり、好ましい強度の範囲は2W/cm<sup>2</sup>と4W/cm<sup>2</sup>との間である。たいいていの医療的利用では、照射は1分間と10分間との間で行われる。超音波はパルス的であっても連続的であってもよい。しかしながら、周波数、強度、および照射時間は互いに依存するだけでなく、拡散する分子および照射部位における皮膚の性質の関数である。最大照射量を決定する1つの方法は、皮膚の温度を測定することである。皮膚の温度が1~2℃上昇する場合には、処理を緩和するかまたは中止する。

本発明の別の実施態様では、超音波エネルギーを用いて、

に塗布した後におけるラットの尿中への( $^3\text{H}$ )-D-マンニトールの排出を表すグラフである。○-○-○および●-●-●は、それぞれ超音波照射を行った結果と行わなかった結果である。

第4図a~cは、(a)20 $\mu\text{Ci}$ の( $^3\text{H}$ )-D-マンニトール、(b)10 $\mu\text{Ci}$ の( $^3\text{H}$ )-D-マンニトール、および(c)50 $\mu\text{Ci}$ の( $^3\text{H}$ )-イヌリンを局所的に塗布した後に、10時間にわたってラットの尿中へ排出された $^3\text{H}$ -薬剤の百分率を表すグラフである。○-○-○および●-●-●は、それぞれ超音波照射を行った結果と行わなかった結果である。

第5図は、5 $\mu\text{Ci}$ を局所的に塗布した後に、10時間にわたって無毛マウスの尿中へ排出された( $^3\text{H}$ )-D-マンニトールの百分率を表すグラフである。○-○-○および●-●-●は、それぞれ超音波照射を行った結果と行わなかった結果である。

#### 発明の詳細な説明

本発明は、薬剤の皮膚中への、および皮膚を通して循環器系への透過の速度および効力を高める方法であり、該方法は、皮膚を所定の割合で超音波にさらすことを包含する。この超音波は、角質層を速しての分子の移行を変化させる。このような移行は、細胞間、細胞内、および付置器を通しての透過によって起こる。必要とされる超音波の照射時間、周波数および強度は、種々の要素に依存する。その要素には、皮膚の厚みおよび透過に対する皮膚の抵抗性が包含される。これら

は、種族間、年令、外傷や疾病があるか否か、およびその個体が置かれた環境により異なる。

超音波は、20kHzを超える周波数を有する音波である。医療で治療用途に用いられる超音波には、通常、1.5 から約10 MHzの周波数のものが採用される。ここでは、分子の経皮的な移行を促進するために、20kHzおよび10MHzの間の周波数で0および3 W/cm<sup>2</sup>の間、好ましくは2および4 W/cm<sup>2</sup>の間の強度の超音波が用いられる。好ましい周波数の範囲は、0.5MHzおよび1.5 W/cm<sup>2</sup>の間である。パルス状の超音波を放射する機器および連続した超音波を放射する機器のいずれもが使用され得る。照射時間は、ただの数秒間で充分である。なぜなら、超音波に対する応答時間は極めて速いためである。過剰に照射すると火傷が起きるため、注意しなければならない。皮膚の温度は、過剰照射に対するひとつの指標である。本発明では、ヒトの皮膚については、38℃を下まわる温度に保持される。

後述の実施例においては、ラットおよびマウスの皮膚のインビトロで超音波処理が行われる。その超音波のエネルギーは1から2 W/cm<sup>2</sup>であり、周波数は870kHzであり、照射時間は1から3分間である。ラットおよびマウスの皮膚をインビトロで処理する場合には、より低い周波数(75kHzのレンジ)でより長い期間(2時間まで)にわたり行う。超音波による最大の効果は、局部的に塗布した後、超音波を照射した場合に達成される。薬剤を局部的に塗布した後、10時間を超えてから

超音波を照射した場合には、効果はほとんど認められない。

超音波発生装置の特定の装置態様は、重要ではない。超音波が照射される部位に依存して、プローブ、槽および容器がいずれも用いられ得る。数多くの機器が市販されている。集団でのワクチン接種に一般に用いられる高圧デバイスに類似の超音波照射装置を用いると、患者の経皮的な処理が迅速化し、容易となり、繰り返して行うことができるようになる。

超音波は、空気中ではよく伝播しない。そのため、超音波発生装置を皮膚との間に液体の媒体を介在させることが好ましい。水性のまたは無機のゲルのいずれのタイプのものでも使用され得、それには多くの市販の製品のうちのひとつが含まれる。好ましくは、その媒体は、水の吸収係数に近い吸収係数を有するべきである。あるいは、超音波発生器を、経皮的に移行させるべき分子を含有する貼付剤(例えば、超音波を使用せずに、薬剤を経皮的に吸収させるのに使用される薬剤含有貼付剤)に直接適用することも可能である。これらの貼付剤は、一般に、保護カバー、薬剤を含有するマトリックス、支持体および該貼付剤を適所に保持させ得る粘着剤とからなる。

超音波を使用することの利点は、移行の速度および効果が改善されるということである。通常の場合には、皮膚を透過せず循環系に入らない薬剤が、超音波照射により皮膚を透過させられる。周波数、強度および照射時間を制御することにより、移行の速度が制御される。血液または尿中の濃度を時

間の経過とともに測定することは、どのような超音波照射条件が適当であるかを決定するのに用いられ得る。

好適な実施態様においては、超音波は、高分子量または極性分子のような化合物の、患者の皮膚を通しての移行を促進するために用いられる。塗布された薬剤の移行速度を高め、方向性を持たせたコントロールを行うことにより、より大きな制御と薬剤の利用性が増進される。従って、血流に速やかに入る薬剤の割合が増加し、望まない副作用が避けられる。超音波の照射により、薬剤の経皮的な導入が可能となる。これは、超音波を照射しなければ不可能なことである。最終的な目的は、分子を血流中に最も望ましい速度で導入することである。ここで使用される経皮吸収デバイス、または「貼付剤」においては、ニトグリセリンのような低分子量の薬剤であっても血流中に入るのに30分間を要する。カタプレサン(catapresan)のような高血圧症に対する薬剤は、完全に血流中に入るのに2日を要する。これらの薬剤が経口投与されたときに血流中に入るのに必要とされる時間と同様の時間(ほんの数分間)に短縮することが非常に望ましい。

ここに開示されている方法の安全性および効果は、<sup>3</sup>H標識化マンニトールおよびイヌリンを用いた実施例(これに限定されない)により明らかにされる。

これらの化合物は、次の理由により選択された。つまり、D-マンニトールは非常に極性の高い糖アルコールであり、イヌリンは分子量が高い(m.w.5200)多糖類であり、皮膚を透

過しにくい。それゆえ、透過性のわずかな変化を検知することが可能である。そして、D-マンニトールおよびイヌリンは全部速やかに排出される。このことにより、血流中の薬剤量をインビトロで直接監視することが可能である。

#### 実施例1:インビトロにおける皮膚透過性の増強

超音波エネルギーによって起こる皮膚透過性の変化は、二室セルを用いたインビトロ拡散法によって決定された。拡散セルは2つの独立した区画(4.5 mlおよび5.5 ml)から構成されており、各区画の側面にある直径1.3cmの開口部を介して互いに絡め付けられるように設計されている。各区画にある磁気攪拌子を用いて攪拌した。動物をCO<sub>2</sub>で殺し、背部の皮膚片を切除した。皮膚試料は圧力クランプを用いてセル間に、角質層がドナー溶液に面するように保持した。ドナー区画には、0.1Mのリン酸塩を含有する緩衝化食塩溶液(pH7.3)のD-マンニトール飽和溶液を入れ、この中に20 μCiのD-<sup>3</sup>H-マンニトールを含有させた。レシーバ溶液は緩衝化食塩水であった。水を満たした超音波槽の中央に、このセルを置いた。この超音波槽はBAIリサーチコーポレーション モデル250であり自動調温されたステンレス鋼製の水槽(3.5"×3.5"×2.5")中で75kHzの周波数の超音波を発生した。透過性の実験は、超音波を照射し始めてから最初の2時間以内に実施した。レシーバ溶液から200 μlの試料を時間の経過とともに採取し、200 μlの緩衝化食塩水で置き換えた。採取された

試料の放射能は液体シンチレーションカウンターを用いた計数によって測定した。すべての実験は室温(22℃)で実施した。対照には超音波を照射しなかった。

ラットおよびマウスの皮膚をインビトロで拡散している<sup>3</sup>H-D-マンニトール溶液を含むセルに75kHzの超音波を2時間照射したところ、第2図に示すように薬剤の透過が50~80%に増大した。薬剤をドナーセルに注入する前に皮膚に2時間照射した場合にも同様の効果が観察された。

超音波の照射はマウスの皮膚の透過性を減少させなかった。しかしながら、SEMの研究では、870kHzで1.5W/cm<sup>2</sup>の超音波をインビボで1分間照射した対照の皮膚またはマウスの皮膚と比較すると、75kHzでかなりの強度の超音波をインビトロで2時間照射したマウスの皮膚では、表面にかなりの程度の機械的な裂傷が見られる。

#### 実施例2 インビボにおける皮膚透過性の増強

インビボでのラットおよびマウスにおけるD-<sup>3</sup>H-マンニトールおよび<sup>3</sup>H-イヌリンの皮膚透過に及ぼす超音波エネルギーの効果が試験された。

スプラーグ・ダウレー(CD)雄ラット(体重が各200~250g)および無毛マウスがこの実施例で用いられた。外因的な皮膚の損傷を極小にすべく条件が設定された。超音波治療機器(ブルディックBT420A)がこのインビボでの実験に用いられた。この機器は、機械的効果と熱的効果との組合せにより治療を容易にするために、ヒトおよび動物の組織を処理する

り、それらの片をそれぞれシンチレーションバイアルに入れた。蒸留水1mlを各バイアルに加え、その薬剤を溶かした。アクアゾル(ニューイングランド・ニュークレア、ボストン、MA)シンチレーション液の10mlを加え、そして放射能を測定した。

第3図は、放射能標識された<sup>3</sup>H-D-マンニトール20μlを局部的に塗布し、次いで直ちに2~3分間、1.5~2.0 W/cm<sup>2</sup>で超音波処理を行った後の<sup>3</sup>H-D-マンニトールの排出を、対照ラット(超音波処理をしていない)による排出と比較したものである。超音波処理されたラットは最初の2時間の間は尿中に放射能を対照ラットよりも20倍だけ多く保有していた。超音波の効果は時間と共に減少した。10時間後には、それら二つのグループの尿中の放射能は区別できなかった。<sup>3</sup>H-D-マンニトールの放出速度の差は超音波処理が薬剤投与された直後に行われた場合のみ観察された。これらのラットが超音波で処理されたとき、薬剤投与後10時間もしくはそれ以上の間、その放出速度に何の变化も認められなかった。

マンニトールは身体から全部そしてすばやく除去され、それゆえ、尿中に完全に現れる。薄層クロマトグラフィーにより評価されるように、超音波の透過分子に及ぼす影響は、超音波エネルギーによりマンニトールが分解されないということを示した。

第4図は、ラットに<sup>3</sup>H-D-マンニトールと<sup>3</sup>H-イヌリンの両方を局部塗布した後、10時間にわたって排出される放射能

に用いることが認められている。

5~20μlのD-<sup>3</sup>H-マンニトールの試験溶液をラットの背面上部の毛をそった箇所へ塗布し、次いで、そこへ水溶性の超音波用ゲルをつけた。インビボおよびインビトロの実験の両者について皮膚表面の変化を電子顕微鏡技術により調べた。走査電子顕微鏡(SEM)検査を行うために、そのマウスおよびラットの背面の皮膚片を2%グルタルアルデヒドで固定し、次いで1%オスミウムテトラロキサイドで処理し、そしてアルコール中(連続的に濃度を上昇させる)で脱水した。次いで、臨界点まで乾燥し、そしてこの電子顕微鏡で検査した。

尿中に排出された薬剤の量の測定はインビボでの実験において透過速度の決定要素であった。尿を膀胱内に挿入されたカテーテルにより集めた。切開部は糸で縫って閉じ、そしてそのラットを制止具内に置いた。10μlの<sup>3</sup>H-D-マンニトールおよび12.5~50μlの<sup>3</sup>H-イヌリンの試験溶液をその皮膚に塗布し、次いで超音波を照射した。尿を最初の2時間は15~30分ごとに集め、そしてその後は数度にわたって集めた。各尿サンプルの容量と放射能とを測定した。

超音波処理されたラットと対照のラットとの尿のサンプルを、シリカプレート上の薄層クロマトグラフィーにより比較した。このシリカプレートはn-ブタノール:ピリジン:水(6:4:3)の溶液にて展開され、そしてホスホモリブデン酸試薬により可視化された。この展開シリカゲルプレートをスポットが互いに相対的に移動した距離(R<sub>f</sub>)に従って数区分に切

の全量に対する特定の時間間隔において排出された[<sup>3</sup>H]の百分率を比較したものである。これを相対的な薬剤透過の尺度として用いた。超音波処理されたラットにおいて、最初の2時間の間に排出された[<sup>3</sup>H]の百分率は<sup>3</sup>H-D-マンニトールについては20%~30%であり、<sup>3</sup>H-イヌリンについては50%であった。これに対し、各対照においては、<sup>3</sup>H-D-マンニトールについては2~5%、そして<sup>3</sup>H-イヌリンについては10%であった。表1に示すように、相対的な薬剤透過の速度Rは以下の式により定義される:

$$R(t) = \frac{P_{us}(t)}{P_{ct}(t)}$$

ここで、P<sub>us</sub>は、10時間にわたり尿中へ排出される[<sup>3</sup>H]の全量で割って得られる、ある時間tにおける超音波処理ラットの尿中の[<sup>3</sup>H]の百分率である。P<sub>ct</sub>は、10時間にわたりラットにより排出される[<sup>3</sup>H]の全量で割って得られる、ある時間tにおける非処理ラットの尿中の[<sup>3</sup>H]の百分率である。表1からわかるように、両薬剤の皮膚透過は、最初の2時間の間は、超音波処理ラットにおける方が対応する対照グループのそれよりも5~20倍大きかった。

(以下余白)

表1  
ラットにおける薬剤透過の相対比

| 時 間<br>(時) | D- <sup>3</sup> H-マンニトール |       | <sup>3</sup> H-イヌリン |
|------------|--------------------------|-------|---------------------|
|            | 20mCi                    | 10mCi |                     |
| 2          | 19                       | 19    | 6                   |
| 5          | 2.5                      | 1.5   | 1.5                 |
| 10         | 1                        | 1     | 1                   |

第5図は、5  $\mu$ l の D-<sup>3</sup>H-マンニトールの塗布の直後に 1 ~ 1.5W/cm<sup>2</sup> の超音波処理を 1 分間行った後の、マウスにおける D-マンニトールの相対的な透過性を示している。結果は、特定の時刻における (<sup>3</sup>H) の排出量を 10 時間にわたって排出された (<sup>3</sup>H) の全排出量で除した百分率で表されている。

薬剤の塗布の 10 時間後に超音波処理を施した場合にも、排出された放射能の百分率に変化はなかった。

これらの実施例は、<sup>3</sup>H-D-マンニトールと <sup>3</sup>H-イヌリンのラットにおける経皮透過性が、超音波処理後の最初の 2 時間の間に 6 ~ 20 倍増加することを示している。この増加は、安定状態に到達する前の、経皮透過の初期の段階においてのみ観察された。超音波エネルギーによって、ラットにおける D-マンニトールおよびイヌリンの経皮透過の遅延時間が短縮されたが、安定状態段階での薬剤の放出速度には変化がなかったという事実により、以下のことが示唆される。つ

まり、超音波処理によって高められるのは、ラットの皮膚の角質層そのものを通しての拡散よりも、毛嚢等のような代替的な通路を通しての接与質の拡散にすることであることが示唆される。

1MHz の周波数を有する超音波の強度が 5 W/cm<sup>2</sup> である場合には、有意な温度上昇は起こらず、かつ、増殖可能なマウスまたはラットの皮膚に有害な影響が生じなかった。ラットに 3 W/cm<sup>2</sup> 未満の超音波エネルギーが 3 分間を下まわる時間だけ加えられた場合には、またはマウスに 1.5 W/cm<sup>2</sup> の超音波エネルギーが 1 分間加えられた場合には、1℃ を越える皮膚温度の上昇はなかった。より長い時間の処理は、時おり皮膚に熱傷を引き起こした。

要訳すると、インビボおよびインビトロの両方において、2 つの種の皮膚を用いたこれらの実施例により、次のことが説明される。つまり超音波は、皮膚を通しての、そして、循環系への分子の移行を促進させる有効な手段であることが説明される。周波数、出力および加える時間は、皮膚のタイプおよび拡散させる分子の両方を考慮して、個々の場合に適合するように最適化され得る。

本発明は特定の実施態様に関して記述されたが、皮膚内への、そして皮膚を通しての分子の移行を促進させるために超音波エネルギーを使用する本方法の修正および変形が当業者の思いつくところとなり得ると思われる。そのような修正および変形は、添付の請求の範囲に包含される。

FIGURE 1

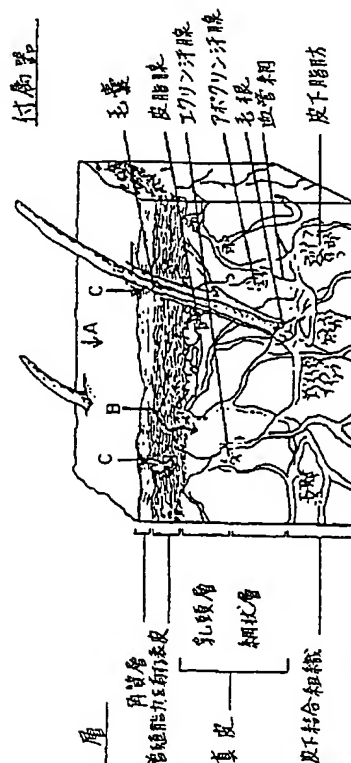


FIGURE 2

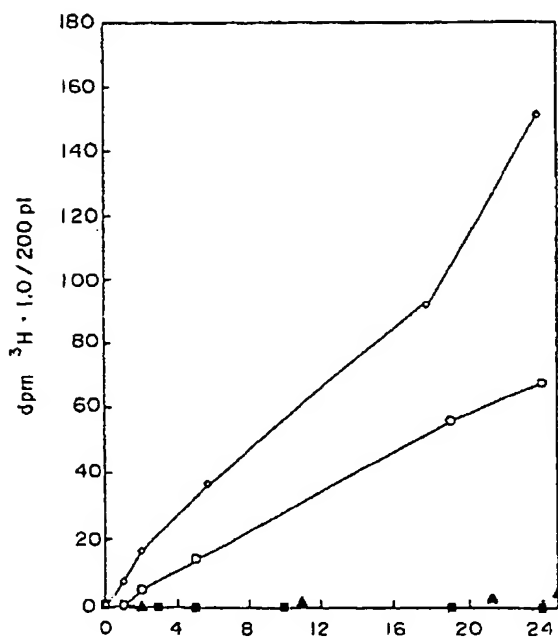


FIGURE 3

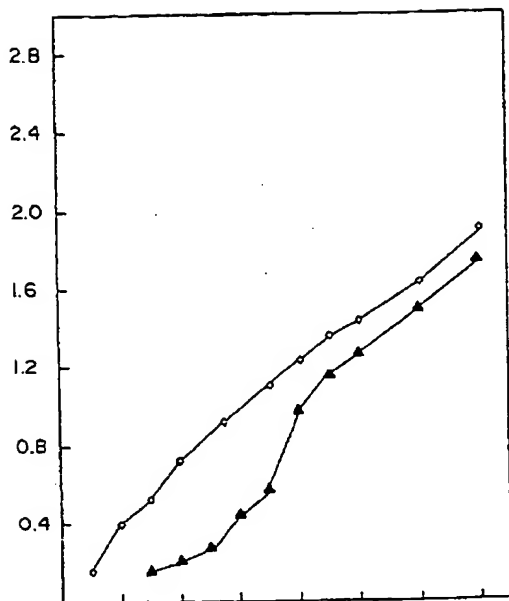
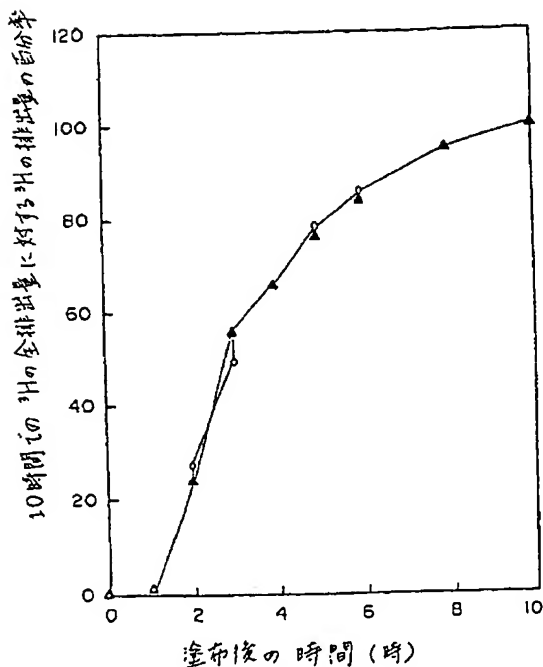


FIGURE 5



ラットにおける相対的な薬利透過 (インビボ)

FIGURE 4A

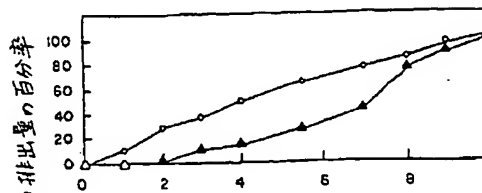


FIGURE 4B

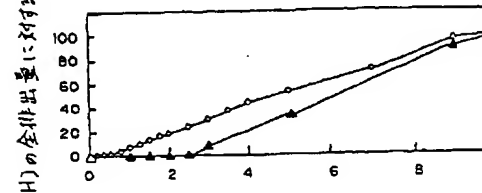
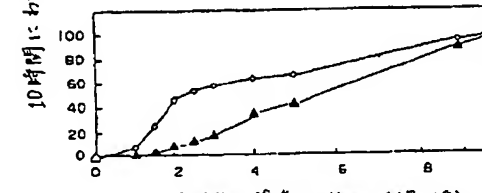


FIGURE 4C



局所的に塗布した後の時間 (時)

国際調査報告

Issued pursuant to PCT Article 17(1)(c) (11)

|   |                                |  |  |
|---|--------------------------------|--|--|
| IDENTIFICATION OF THE INTERNATIONAL APPLICATION   |                                | APPLICANT'S OR AGENT'S FILE REFERENCE<br>PCT/US 87/01546 |  |
| International Application No.<br>PCT/US 87/01546  |                                | International Filing Date<br>29th June 1987              |  |
| Receiving Office<br>NO/US   |                                | Priority Date Claimed<br>8th July 1986                   |  |
| Applicant (Name)<br>MASSACHUSETTS INSTITUTE OF TECHNOLOGY   |                                |  |  |
| DECLARATION   |                                |  |  |
| This International Searching Authority hereby declares that an international search report will be established on the above identified international application for the reasons indicated below (1): |                                |  |  |
| 1. The subject matter of the international application relates to (2):  |                                |  |  |
| a. <input type="checkbox"/> scientific theories.  |                                |  |  |
| b. <input type="checkbox"/> mathematical theories.  |                                |  |  |
| c. <input type="checkbox"/> plant varieties.  |                                |  |  |
| d. <input type="checkbox"/> animal varieties.   |                                |  |  |
| e. <input type="checkbox"/> essentially biological processes for the production of plants and animals, other than microbiological processes and the products of such processes.                       |                                |  |  |
| f. <input type="checkbox"/> schemes, rules or methods of doing business.  |                                |  |  |
| g. <input type="checkbox"/> schemes, rules or methods of performing purely mental acts.   |                                |  |  |
| h. <input type="checkbox"/> schemes, rules or methods of playing games.   |                                |  |  |
| i. <input type="checkbox"/> methods for treatment of the human body by surgery or therapy.  |                                |  |  |
| j. <input type="checkbox"/> methods for treatment of the animal body by surgery or therapy.   |                                |  |  |
| k. <input type="checkbox"/> diagnostic methods.   |                                |  |  |
| l. <input type="checkbox"/> mere presentations of information.  |                                |  |  |
| m. <input type="checkbox"/> computer programs for which this International Searching Authority is not equipped to search prior art.   |                                |  |  |
| 2. The failure of the following parts of the international application to comply with prescribed requirements prevents a meaningful search from being carried out (3):                                |                                |  |  |
| a. <input type="checkbox"/> the description.  |                                |  |  |
| b. <input type="checkbox"/> the claims.   |                                |  |  |
| c. <input type="checkbox"/> the drawings.   |                                |  |  |
| country   |                                |  |  |
| CERTIFICATION   |                                |  |  |
| International Searching Authority<br>ISA / EP   | Date of mailing<br>11 SEP 1987 | Authorizing Officer<br>M. VAN DER ...                    |  |

PCT/US 87/01546 (11)